

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K13588

研究課題名(和文) 鉱物をテンプレートとした前生物的RNA生成への挑戦

研究課題名(英文) Challenge to the formation of prebiotic RNA on mineral templates

研究代表者

古川 善博 (Furukawa, Yoshihiro)

東北大学・理学研究科・助教

研究者番号：00544107

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では鉱物表面でのヌクレオチドの重合によるオリゴヌクレオチドの生成に挑戦した。テンプレート鉱物はジブサム、カルサイトを用い、4種類のヌクレオチドについて実験を行なった。その結果、一部の実験ではジブサム基盤、ガラス基盤で十数量体のオリゴヌクレオチドが生成した。しかし、再現性や基板による優位な差が確認されないことから、追加実験を行なっている。また、ホウ酸とリン酸を含む鉱物であるルネバガイトが、ヌクレオチドをリン酸化してヌクレオチドの生成を可能にするということを示した研究はドイツの科学誌Angewandte Chemie International Editionに掲載され表紙にも選ばれた。

研究成果の概要(英文)：This study challenged the formation of oligonucleotides on mineral templates. Gypsum and calcite were used as the template mineral since they are ion crystal that potentially presented on the early Earth. Four kinds of adenosine nucleotides were investigated as the monomer of the oligomerization experiments. As the results, oligonucleotides were formed on gypsum template and glass template. However, the reproducibility of the results and the effects of template remain unclear. Thus, additional experiments are conducted. Further, a borophosphate mineral, lüneburgite, was investigated as the source of phosphorus in phosphorylation of nucleoside and found that this mineral serves phosphate effectively and promote the formation of nucleotide in a potential prebiotic environment. This work was published in Angewandte Chemie International Edition as a very important paper.

研究分野：地球化学

キーワード：鉱物 RNA テンプレート 重合 リン酸化 ヌクレオチド

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

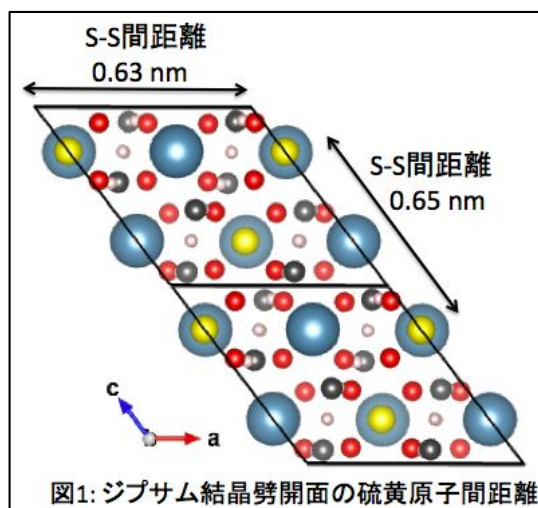
### 1. 研究開始当初の背景

現在の生物で、RNA は遺伝情報の一部を写し取っており、さらに一部の RNA はタンパク質のような酵素としての役割を果たすことが知られている(例えば Joyce 1989 *Nature*)。このことから RNA が DNA やタンパク質以上に生命の起源にとって重要な物質であると考えられ、RAN World 仮説として支持を得ている。RNA の形成反応はヌクレオチドという構成単位の脱水重合であるために、反応は水中では進みにくく、ほとんどの実験ではそれを補うために有機縮合剤を使っている(Ferris *et al.*, 1996 *Nature*)。しかし、有機縮合剤が当時の地球に存在したのかどうかについては多くの疑問が呈されている。一方で、縮合剤を使用しない場合は、単量体が 2 量体に重合することしか報告されていなかった(Renz *et al.*, 1971)。つまり、現在のところ、RNA の形成は不可能であるというのが地球科学的な側面からの結論となっている。このことが RAN World 仮説最大の問題点となっている。一方で、近年の研究では水溶液中でもオリゴヌクレオチドが生成すると報告されたが、複数のグループから再現性の問題が指摘されている。このように、オリゴヌクレオチドの生成は非常に重要な問題で多くの議論を呼んでいる。

### 2. 研究の目的

本申請では既存のモデルに以下の 2 点の新たな着眼点を導入し、有機縮合剤を使用せずに、RNA の形成を目指す。1) 鉱物テンプレートの使用：先行研究では Na モンモリロナイトをテンプレートに使用していたが、それが最善のテンプレートであるかどうかの検討はなされていない。本申請の研究では特にジブサムと方解石を候補鉱物として使用する。ジブサムは劈開面 ( $\{010\}$  面) に並ぶ結晶中の硫黄間の距離が 0.63 または 0.65 nm で (図 1) 方解石は劈開面 ( $\{10-14\}$  面上) の C-C 間の距離が 0.49, 0.40, 0.64 nm なので、RNA のリン酸の距離(0.59-0.70 nm)と近く、反応により形成していく不安定な RNA 鎖を表面吸着により固定し、安定化する可能性がある。2) 水以外の溶媒(ホルムアミド)中での重合：ホルムアミドは常温で液体の単純な有機物で初期地球の環境においても生成することが報告されている。ヌクレオチドの重合は脱水反応であるために水溶液中では反応が進みにくいが、ホルムアミド中では反応が進行する可能性がある。ホルムアミドは沸点が水より高いので、天然の蒸発環境で水との混合物からホルムアミドを濃縮した湖を想定する。

本申請の研究は、申請者グループの仮説に基づく環境を想定して、そこでヌクレオチドが重合するかどうかを確かめる研究である。



先行研究では縮合剤を使わない場合は 2 量体までしか重合する環境は確認されていないので、重合する環境は稀なものでチャレンジ性が高い。しかも、結果は「重合する」または「重合しない」という極端な形で現れる。このようなチャレンジ性が極めて高い研究は基盤研究や若手研究などでは不可能で、挑戦的萌芽研究で行う必要がある。

本申請のアイデア、特に鉱物中の陰イオンの間隔(ジブサム中の硫酸イオンおよび方解石中の重碳酸イオンの距離)が RNA のリン酸間距離に一致することに着目したのは、申請者が 2014 年にアメリカの研究所に滞在し有機化学者の Steven Benner 博士の下で研究と議論をしていた際に生まれたもので、異色のコラボレーションによる極めて独創性が高いものである。しかも、本実験は鉱物についての知識と分子生物学の分析手法が必要で、このような知識および経験を併せ持つ研究者は極めて少ない。代表者はこの手法を本申請の研究協力者である Steven Benner 博士(応用分子進化学財団, フロリダ州)の研究室で実験をしていた頃に習得した。このような鉱物学と核酸の有機化学をベースとした実験は特殊だが、代表者には可能である。また、結晶中の陰イオン間隔に着目した研究は先行研究には全くないものである。

### 3. 研究の方法

一年目は電気泳動装置などの必要な装置の立ち上げと、検出に必要な蛍光試薬の選定などから始め、実際の実験に移行した。典型的な実験は、ジブサムまたは方解石を劈開面で割ってチップを作成し、このチップ上に実験 A として各種の 4 種類のヌクレオチド(5'-アデノシン 1 リン酸, 2',3'-環状アデノシン 1 リン酸または 3',5'-環状アデノシン 1 リン酸, 3'-アデノシン 1 リン酸)のホルムアミド溶液またはこの尿素水溶液、実験 B として 30 量体の RNA と各種のアデノシン 1 リン酸ホルムアミド溶液または水溶液の混

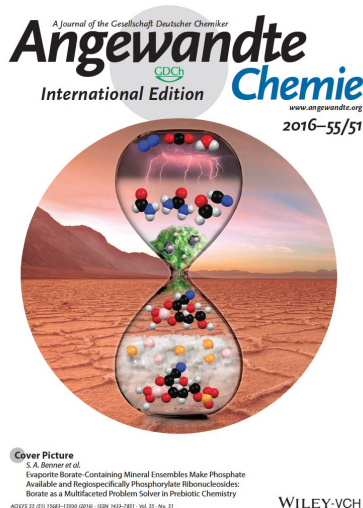
合物を鉱物劈開面に滴下した。この試料を60℃で1-7日間加熱し反応を行なった。生成物は高濃度の食塩水を用いて結晶表面から洗い出し、生成物を抽出した食塩水中のアデノシン-リン酸とその期待される重合物は酵素(PNK)を用いて  $^{32}\text{P}$  で放射性同位体ラベルするか、SYBR Green2 または GelRed を用いて蛍光ラベルした。ラベルした生成物を電気泳動によって期待される重合物の長さにより分離した。分離したゲルは放射性ラベルの場合、X線フィルムに露光させた後、フィルムをイメージスキャナーで取り込み、生成物の同定を行った。蛍光ラベルの場合はそのままスキャナーでイメージを取り込んだ。さらに大まかな収率を得るために、ESI イオン化タイプの質量分析計を用いた生成物の分析も行った。

実験や分析ではアドバイザーとして有機化学、分子生物学、特に核酸の化学が専門の Steven Benner 博士(応用分子進化学財団, フロリダ州)に協力頂いた。実際に、応用分子進化学財団でも放射性同位体ラベルの電気泳動分析も行った。

#### 4. 研究成果

本研究では鉱物表面でのヌクレオチドの重合によるオリゴヌクレオチドの生成に挑戦した。テンプレート鉱物はジプサム、カルサイトを用い、4種類のヌクレオチド(5'-アデノシン1リン酸, 2',3'-環状アデノシン1リン酸または 3',5'-環状アデノシン1リン酸, 3'-アデノシン1リン酸)について実験を行なった。ヌクレオチドの溶媒については尿素水溶液とホルムアミドを用いた。これらのうちの任意の組み合わせの実験を行い、生成物を電気泳動と質量分析計で同定した。その結果、一部の実験ではジプサム基板およびガラス基板で十数量体のオリゴヌクレオチドが生成した。

初期地球において現実的な触媒を用いてオリゴヌクレオチドが生成することを示しており、非常に重要な結果を得ることができた。これは特に  $^{32}\text{P}$  で放射性ラベル



研究論文が掲載された号の *Angewandte Chemie International Edition* の表紙

をして電気泳動を行う検出方法のみで検出された。また、対照実験として設定したガラス基板を用いた実験とジプサムを用いた実験で優位な差が確認されないことから、生成条件の結論を得るには再現性等を確認する必要があり、現在は追加実験を行っている。

また、ヌクレオチドの重合実験のためにフロリダの応用分子進化学財団を訪問中にヌクレオチドのリン酸化によるヌクレオチド生成実験も行なった。ヌクレオチドにリン酸が反応するとヌクレオチドが生成するが、天然ではリン酸塩鉱物はアパタイトのような難溶性の鉱物として存在し、リン酸の供給源とならない。この実験では、ホウ酸とリン酸を含む鉱物であるルネバガイトに着目した。ルネバガイトも溶解度は低い、ルネバガイトに含まれるホウ酸はヌクレオチドと反応してホウ酸-ヌクレオチド錯体を形成しやすい。この結果、放出されたリン酸がヌクレオチドをリン酸化してヌクレオチドの生成を可能にするということを示し、研究結果はドイツの科学誌 *Angewandte Chemie International Edition* に掲載され、"Very Important Paper" に選ばれ、表紙にも採用された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1件)

Kim H.J., Furukawa Y., Kakegawa T., Bita A., Scorei R., Benner S. A., Evaporite Borate-Containing Mineral Ensembles Make Phosphate Available and Regiospecifically Phosphorylate Ribonucleosides: Borate as a Multifaceted Problem Solver in Prebiotic Chemistry. *Angewandte Chemie International Edition* 55, 15816-15820 (2016). DOI: 10.1002/anie.201608001 査読あり

〔学会発表〕(計 2件)

H.J. Kim, Y. Furukawa, T. Kakegawa, A. Bita, R. Scorei, S.A. Benner, PHOSPHORYLATION IN THE RNA FIRST MODEL FOR ORIGIN OF LIFE. LÜNEBERGITE AND OTHER EXOTIC MINERALS., Astrobiology Science Conference 2017, April 24-28, 2017 in Mesa, Arizona, USA

古川善博, 初期地球におけるオリゴヌクレオチドの生成に関する最近の研究と問題点, 日本アストロバイオロジーネットワーク年会, 2016年9月22-23日, 仙台

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0件)

名称:

発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：平成 年 月 日  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：平成 年 月 日  
取得年月日：平成 年 月 日  
国内外の別：

〔その他〕

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

古川 善博 (FURUKAWA, YOSHIHIRO)  
東北大学・大学院理学研究科・助教  
研究者番号：00544107

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

掛川 武 (KAKEGAWA, TAKESHI)  
東北大学・大学院理学研究科・教授  
研究者番号：60250669

長瀬 敏郎 (NAGASE, TOSHIRO)  
東北大学・総合学術博物館・准教授  
研究者番号：10237521